

# OPTIMASI EKSTRAKSI OLEORESIN PALA (*Myristica fragrans* Houtt) ASAL MALUKU UTARA MENGGUNAKAN *RESPONSE SURFACE METHODOLOGY* (RSM)

Optimization of Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt) Oleoresin Extraction Origin From North Maluku Using Response Surface Methodology (RSM)

Muhammad Assagaf<sup>1</sup>, Pudji Hastuti<sup>2</sup>, Chusnul Hidayat<sup>2</sup>, Supriyadi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Maluku Utara. Jl. Kusu, Sofifi, Kota Tidore Kepulauan

<sup>2</sup>Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Jl. Flora No. 1, Bulaksumur, Yogyakarta 55281

Email: assagaf\_met@yahoo.com)

## ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh kondisi ekstraksi yang optimum dengan melakukan optimasi suhu dan lama ekstraksi dan karakterisasi komponen kimia penyusun oleoresin pala (*Myristica fragrans* Houtt) Asal Maluku Utara. Oleoresin diekstrak menggunakan metode maserasi, untuk optimasi kondisi ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM) dengan disain rancangan *Central Composite Design* (CCD) dua faktor yaitu  $X_1$  (suhu/°C) dan  $X_2$  (waktu/menit). Sedangkan untuk karakterisasi komponen senyawa kimia penyusun oleoresin pala digunakan GC-MS. Hasil optimasi kondisi ekstraksi diperoleh suhu optimum ekstraksi sebesar 51,98°C dan waktu optimum ekstraksi adalah selama 273,82 menit dengan hasil optimum hasil oleoresin yang diperoleh sebesar 14,88 %. Hasil karakterisasi dengan menggunakan GC-MS diperoleh 39 komponen dengan 5 senyawa kimia penyusun oleoresin dengan luas area relatif terbesar yaitu senyawa methyleugenol (33.397%), myristicine (10.898%), cis-methyl isoeugenol (9.086%), elemicin (8.329%), dan isocoumarin (5.608%) dengan 34 komponen yang memiliki persen relatif luas area minor.

**Kata kunci:** Oleoresin pala, optimasi ekstraksi, *Response Surface Methodology*, karakterisasi

## ABSTRACT

The purpose of this study was to obtain the optimum extraction conditions by performing the optimization of temperature and extraction time and characterization of constituent chemical components of oleoresin nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt) Origin of North Maluku. Oleoresin extracted using maceration method, for optimization of extraction conditions was done by using Response Surface Methodology (RSM) design with the Central Composite Design (CCD) two factors  $X_1$  (temperature / °C) and  $X_2$  (times / minute). As for the characterization of the chemical constituent components of nutmeg oleoresin used GC-MS. From the results obtained by the optimization of extraction conditions for extracting the optimum temperature of 51.98 °C and the optimum extraction time was 273.82 minutes with the results for the optimum result of oleoresin obtained by 14.88%. The results of characterization by using GC-MS obtained with 39 components making up oleoresin chemical compound with the largest relative area of the compound methyleugenol (33,397%), myristicine (10,898%), cis-methyl isoeugenol (9,086%), elemicin (8,329% ), and isocoumarin (5,608%) with 34 percent of the components that have relatively minor area.

**Keywords:** Nutmeg oleoresin, extraction optimization, Response Surface Methodology, characterization

## PENDAHULUAN

Rempah-rempah merupakan bumbu utama yang digunakan pada kebanyakan produk makanan pada saat ini. Di antara rempah-rempah utama Indonesia, pala (*Myristica fragrans* Houtt) merupakan salah satu rempah yang produksinya cukup tinggi dan telah secara luas diusahakan. Oleoresin merupakan bentuk ekstrak rempah yang mempunyai karakter flavor yang lengkap dan didalamnya terkandung komponen-komponen utama pembentuk flavor yang berupa senyawa mudah menguap (minyak atsiri) dan senyawa tidak mudah menguap (resin dan gum) yang masing-masing berperan dalam menentukan aroma dan rasa (Raghavan, 2007).

Oleoresin hasil ekstraksi dengan pelarut organik memperlihatkan profil flavor mendekati tepung rempah segar, yang mana membuat oleoresin sebagai bentuk alami flavor yang digunakan untuk bumbu dan secara luas diaplikasikan pada makanan (Shaikh dkk., 2006). Metode konvensional umumnya digunakan untuk mengambil oleoresin dan minyak atsiri dari bahan tanaman yaitu ekstraksi dengan pelarut (*solvent extraction*) dan distilasi uap (*steam distillation*) (Simandi dkk., 1999). Ekstraksi oleoresin umumnya dengan menggunakan pelarut organik seperti etanol, aseton dan dikloroetana (Purseglove dkk., 1981), etilen diklorida, metanol, heksan (Somaatmadja, 1981), eter dan isopropil alkohol (Moestofa, 1981). Pemilihan pelarut sangat berpengaruh terhadap kualitas dan kuantitas oleoresin yang diperoleh, disamping itu aspek keamanan juga menjadi pertimbangan sesuai dengan penggunaan oleoresin tersebut.

Beberapa faktor yang berpengaruh terhadap efisiensi ekstraksi, antara lain komposisi pelarut, waktu ekstraksi, suhu ekstraksi (Wettasinghe dan Shahidi, 1999) dan rasio bahan dengan pelarut (Cacace dan Mazza, 2003). Selain faktor-faktor tersebut, faktor daerah asal tanaman pala juga merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi flavor dari minyak atsiri dan oleoresin pala. Menurut Maya dkk. (2004) bahwa dari 65 jenis pala yang diperoleh dari India memperlihatkan tingginya variabilitas kandungan minyak atsiri dan konstituen pada biji pala yang diperoleh dari tempat yang berbeda. Secara umum optimasi ekstraksi dapat dilakukan menggunakan metode empiris atau metode statistik. Secara tradisional pendekatan satu faktor pada satu waktu dalam proses optimasi akan membutuhkan waktu yang lama.

Penelitian ekstraksi oleoresin biji pala menggunakan pelarut organik belum banyak dilaporkan. Penelitian yang dilakukan oleh Rodianawati dkk. (2008), diperoleh rendemen dari oleoresin yang diekstraksi dengan menggunakan etanol 96% selama 2,5 jam dengan rasio bahan:etanol 1:5 dan ukuran bahan 20-30 mesh yang diekstraksi pada suhu 40°C menggunakan metode maserasi yang diulang sebanyak dua

kali diperoleh oleoresin 10.6% dari berat tepung biji pala. Sementara itu penelitian yang dilakukan oleh Utama dan Cisilia (2003) diperoleh oleoresin dengan rendemen tertinggi (11,73%) pada ekstraksi yang menggunakan pelarut n-hexana pada suhu 40°C, waktu ekstraksi 2 jam 30 menit, dengan ukuran biji pala 20 -30 mesh dan rasio pelarut 1:5. Sedangkan dari penelitian Chandrayani (2002), oleoresin hasil ekstraksi yang diperoleh adalah 15,38% dengan kondisi ekstraksi adalah suhu 40 °C selama 3 jam dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:10 menggunakan pelarut aseton. Beragamnya rendemen hasil ekstraksi oleoresin biji pala memberi peluang untuk dilakukan optimasi kondisi ekstraksi dengan melakukan variasi pada suhu dan lama waktu ekstraksi untuk memperoleh hasil yang optimum.

Variabel proses yang dioptimasi dibutuhkan untuk memperoleh hasil oleoresin yang optimal, dan untuk tujuan tersebut *Response Surface Methodology* (RSM) sering digunakan. RSM merupakan teknik statistik digunakan untuk penelitian yang mempunyai proses kompleks dan dipergunakan secara luas dalam penelitian teknologi pangan (Shieh dkk, 1996). RSM adalah gabungan teknik statistik dan matematika untuk rancangan percobaan, membangun model, evaluasi pengaruh faktor dan mencari kondisi optimum dari faktor-faktor yang mempengaruhi respons (Box dkk., 1978).

Kebanyakan RSM diaplikasikan pada bidang kimia atau proses teknik, riset industri, dan penelitian biologi. Keuntungan utama dari RSM adalah berkurangnya jumlah unit percobaan yang dibutuhkan untuk memperoleh hasil yang secara statistik dapat diterima (Hwang dkk., 2002; Kim dkk., 2002). Aplikasi metode RSM dalam penelitian bidang pangan yaitu ekstraksi dengan menggunakan etanol telah dilaporkan oleh Cho dkk. (2009), yang mengekstraksi isoflavon dari kecambah, sedangkan untuk ekstraksi minyak dari kepompong ulat sutra menggunakan super critical CO<sub>2</sub> juga dilaporkan oleh Wei dkk. (2009), ekstraksi minyak atsiri dari Lempoyang (*Zingiber zerumbet*) oleh Norulaini dkk. (2009) dan ekstraksi minyak dari biji almond dilakukan oleh Zhang dkk. (2009).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh hasil ekstraksi yang optimum dengan melakukan optimasi kondisi ekstraksi pada variabel suhu dan waktu ekstraksi dengan metode *Response Surface Methodology* (RSM) dan karakterisasi komponen-komponen kimia penyusun oleoresin pala (*Myristica Faragrans* Houtt) hasil optimasi.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Biji pala yang diekstraksi adalah biji dari jenis tanaman pala (*Myristica fragrans* Houtt) yang dibeli dari petani di desa

Marikurubu Kota Ternate, Maluku Utara. berumur 8-9 bulan, yang dipanen Bulan Pebruari sampai April 2009. Bahan kimia yang digunakan untuk ekstraksi adalah Ethanol 96%.

### Suhu Proses Pengecilan Ukuran Biji Pala

Untuk melihat pengaruh suhu proses pengecilan ukuran bahan berupa biji pala kering terhadap hasil yang diperoleh, dilakukan percobaan pengecilan ukuran pada suhu kamar (30 °C) dan pengecilan ukuran pada suhu 4°C yang dilakukan di dalam ruang *cold storage*, menggunakan blender kering merek National, selanjutnya tepung biji pala diayak menggunakan ayakan 20 mesh dan diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% sejumlah 5 kali dari berat bubuk pala (rasio bahan dan pelarut, 1:5), metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi menggunakan *waterbath shaker* dengan suhu 40°C selama 2,5 jam sambil di goyang pada 120 rpm berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Rodianawati, (2008).

Hasil ekstrak biji pala berupa campuran oleoresin, *nutmeg butter* dan pelarut di masukan kedalam ruang dingin selama kurang lebih 1 jam untuk memisahkan *nutmeg butter*, kemudian dilakukan pemisahan menggunakan penyaringan vakum dengan menggunakan kertas saring Whatman no 1. ekstrak dan pelarut etanol dievaporasi secara vakum untuk menguapkan pelarut selama 3 jam atau sampai etanol tidak menetes pada penampungan pelarut atau ditandai dengan mengentalnya oleoresin. Hasil oleoresin di hitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Hasil Oleoresin} = \frac{\text{berat oleoresin (g)}}{\text{berat bubuk pala (g)}} \times 100$$

Suhu pengecilan ukuran yang menghasilkan oleoresin tertinggi akan digunakan untuk penelitian tahap selanjutnya.

### Penentuan Titik Pusat (*center point*) untuk Variabel Suhu dan Waktu Ekstraksi

**Suhu ekstraksi.** Penentuan titik pusat dilakukan sebelum dioptimasi menggunakan metode RSM, untuk variabel suhu ekstraksi dimulai dari suhu 20, 30,40,50,dan 60°C, *center point* dari variasi suhu pada percobaan ini merupakan hasil terbaik percobaan sebelumnya yaitu suhu ekstraksi 40°C, waktu (2,5 jam) rasio pelarut dengan bahan (1:5) dan jumlah ekstraksi (2 kali) yang digunakan pada percobaan sebelumnya. Kedalam erlenmeyer 250 ml dimasukan sebanyak 25 g tepung biji pala ditambahkan 125 ml etanol 96% kemudian ditutup dengan plastik atau parafilm, selanjutnya dimasukan kedalam *waterbath shaker* yang telah diset suhu mulai dari 20 – 60°C dengan kekuatan guncangan 120 rpm selama 2,5 jam. Hasil ekstraksi disaring menggunakan penyaring vakum dan kerstas saring *whatman* No. 1, ekstrak oleoresin dengan pelarut dimasukan kedalam ruang penyimpanan dingin (*cold*

*storage*) dengan suhu 4 °C selama 1 jam untuk memisahkan *nutmeg butter*, selanjutnya disaring menggunakan penyaring vakum di ruang dengan suhu 18 °C. Hasil saringan berupa ekstrak oleoresin dan pelarut diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40 °C tekanan 175 bar, selama kurang lebih 3 jam untuk volume 125 ml. Penguapan dihentikan bila tidak menetes lagi pelarut atau ekstrak sudah mengental. Labu sampel ekstrak oleoresin kemudian ditimbang untuk penentuan persen hasil oleoresin. Suhu ekstraksi yang menghasilkan persen hasil oleresin yang tertinggi digunakan sebagai titik pusat level dari variabel suhu, juga digunakan untuk penentuan titik pusat waktu ekstraksi pada percobaan berikutnya.

**Waktu ekstraksi.** Suhu ekstraksi yang menghasilkan % hasil oleoresin yang tertinggi dari percobaan sebelumnya yang akan digunakan untuk penentuan waktu ekstraksi, variabel waktu ekstraksi dimulai dari 90 menit (1,5 jam) sampai 330 menit (5,5 jam) dengan interval setiap 60 menit. Erlenmeyer 250 ml dimasukan sebanyak 25 g tepung biji pala ditambahkan 125 ml etanol 96% kemudian ditutup dengan plastik atau parafilm, selanjutnya dimasukan kedalam *waterbath shaker* yang telah diset pada suhu terbaik percobaan penentuan suhu dengan kekuatan goyangan 120 rpm selama 1,5 -5,5 jam. Hasil ekstraksi disaring menggunakan penyaring vakum, ekstrak biji pala dengan pelarut dimasukan kedalam ruang penyimpanan dingin (*cold storage*) dengan suhu 4°C selama 1 jam untuk memisahkan *nutmeg butter*, selanjutnya disaring menggunakan penyaring vakum di ruang dengan suhu 18°C. Hasil saringan berupa ekstrak biji pala dan pelarut diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C tekanan 175 bar, selama kurang lebih 3 jam untuk volume 125 ml, penguapan dihentikan bila pelarut tidak menetes lagi atau ekstrak sudah mengental. Labu sampel ekstrak oleoresin kemudian ditimbang untuk penentuan persen hasil oleoresin.

### Disain Percobaan Optimasi Ekstraksi Oleoresin dengan Response Surface Methodology (RSM)

Pembuatan oleoresin pada penelitian ini dimulai dengan ekstraksi oleoresin dari biji pala menggunakan metode maserasi dengan dua kali ekstraksi. Untuk memperoleh hasil yang optimum dari hasil ekstraksi dioptimasi dengan metode RSM dengan kondisi ekstraksi pada variabel bebas suhu dan waktu.

### Ekstraksi Oleoresin Biji Pala dengan Metode Maserasi Langsung

Sebanyak 40 g tepung biji pala hasil pengecilan ukuran pada suhu 4°C lolos ayakan 20 *mesh* dimasukan kedalam

erlenmeyer 250 ml yang berisi 200 ml pelarut etanol 96 % (perbandingan bahan dan pelarut, 1:5), sampel dimasukan ke dalam *water bath shaker*. pada suhu tertentu (hasil percobaan penentuan titik pusat suhu) selama waktu tertentu (hasil percobaan penentuan titik pusat waktu ekstraksi) dengan kekuatan goyangan 120 rpm. Penyaringan menggunakan kertas saring Whatman no. 1 (ekstrak 1), ampas dari ekstraksi 1, diekstraksi sekali lagi dengan prosedur yang sama, diperoleh ekstrak 2. Ekstrak hasil ekstraksi 1 dan ke 2 secara terpisah didinginkan pada suhu 4°C selama satu jam untuk memisahkan lemak pala. Pemekatan campuran ekstrak oleoresin 1 dan 2 menggunakan *rotary vacuum evaporator* (IKA Werke RV 06 ML) pada suhu 40°C dan tekanan 172 mbar.

RSM digunakan untuk mengkaji variasi oleoresin hasil ekstraksi pada dua variabel bebas kondisi ekstraksi yaitu suhu dan waktu ekstraksi. Komposisi dari kedua variabel telah didisain menggunakan pendekatan Central Composite Design (CCD). Berdasarkan hasil penentuan titik point pada percobaan sebelumnya baik untuk variabel suhu maupun waktu, diperoleh hasil persen oleoresin tertinggi yaitu untuk suhu ekstraksi 50oC, sedangkan pada variabel waktu ekstraksi hasil oleoresin tertinggi pada waktu ekstraksi selama 270 menit. Hasil percobaan ini selanjutnya akan digunakan sebagai titik pusat (center point) pada optimasi kondisi ekstraksi dengan metode RSM. Disain RSM adalah 2k faktorial dengan 8 titik bintang (star points) dan 2 titik tengah (central points) dimana variabel suhu mulai dari 45 sampai 55oC dengan titik pusat 50oC dan waktu mulai dari 240 sampai 300 menit dengan titik pusat 270 menit (Tabel 1). Model persamaan matematika dari CCD dengan 2 faktor adalah sebagai berikut.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^2 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^2 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i < j=1}^2 \sum_{j=1}^2 \beta_{ij} X_i X_j$$

Dalam hal ini Y adalah respon (hasil),  $\beta_0$  adalah konstanta,  $\beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$  adalah koefesien dari variabel bebas (X), X adalah variabel bebas dengan tanpa kode (untuk variabel suhu ekstraksi: suhu ekstraksi (X1) level 45, 50 dan 55°C; waktu ekstraksi (X2) level 240, 270 dan 300 menit dan  $\epsilon$  adalah *random error* (Montgomery, 2001).

Tabel 1. Level variabel bebas, kode dan nilai yang dioptimasi

Variabel bebas	- $\alpha$	-1	0	1	A
X1	42.9289	45	50	55	57.0711
X2	227.574	240	270	300	312.426

Level dari variabel bebas dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1, sedangkan kombinasi perlakuan berupa kode maupun nilai pada metode CCD dengan 10 kombinasi ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Optimasi ekstraksi oleoresin pala menggunakan disain CCD 2 faktor, X1 (suhu, °C) dan X2 (waktu, menit) dengan 10 kombinasi perlakuan (2 *center point*)

No.	Kode		Nilai	
	X1	X2	Suhu (X1)	Waktu (X2)
1	-1	-1	45	240
2	1	-1	55	240
3	-1	1	45	300
4	1	1	55	300
5	-1.414	0	42.93	270
6	1.414	0	57.07	270
7	0	-1.414	50	227.57
8	0	1.414	50	312.43
9	0	0	50	270
10	0	0	50	270

#### Identifikasi Komponen Penyusun Oleoresin Pala dengan Gas Chromatography – Mass Spectroscopy (GC-MS)

Setelah diperoleh oleoresin pala, dilanjutkan dengan pengujian menggunakan GC-MS untuk mengetahui komponen-komponen kimia yang terdapat dalam oleoresin pala. Oleoresin pala dianalisis menggunakan GC-MS dengan kondisi sebagai berikut: Shimadzu GCMS-QP2010S (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) dilengkapi dengan kolom Rtx-5MS (diameter dalam 0.25 mm, panjang 30 m, dan ketebalan film 0.25 $\mu$ m) digunakan untuk analisa GC. Kondisi GC: suhu 80°C dinaikkan sampai 250 °C (4°C/menit) kemudian pada suhu 250 dipertahankan selama 20 menit, suhu injektor dan detektor 290°C, gas pembawa Helium dengan kecepatan aliran 80 ml/min, dan detektor yang digunakan FID. Senyawa diidentifikasi dengan membandingkan *retention index* dan membandingkan *mass spectra* dengan yang ada di database wiley library (Adams, 2004).

#### Analisis Statistik

Analisis statistik menggunakan bantuan software MINITAB Release 14. Dari analisis ini akan diperoleh koefisien yang berpengaruh dan disamping itu juga diperoleh grafik dari respon yang diamati berupa koefisien regresi, 3D *response surface plot* dan *contour plot* (menggunakan Matlab Release 5.3.1.), untuk menguji model dari proses ekstraksi yang optimum.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Penentuan Titik Pusat (*center point*)

Sebelum dilakukan penentuan titik nol untuk variabel suhu dan waktu ekstraksi menggunakan metode RSM, terlebih dahulu dilakukan percobaan ekstraksi oleoresin dengan bahan yang berasal dari suhu ruang pengecilan ukuran tepung biji pala yang berbeda, pada Tabel 3 memperlihatkan bahwa suhu ruang pengecilan ukuran 4°C tepung biji pala dari dua kali ekstraksi menghasilkan oleoresin sebesar 14,86% (% *dry basis*). Hasil yang diperoleh ini lebih besar dibandingkan dengan tepung biji pala yang pengecilan ukuran pada suhu ruang ( $\pm 30^{\circ}\text{C}$ ) yang hanya sebesar 12,04%. Menurut McKee and Harden, (1991) dalam Tomaino *dkk.* (2005), bahwa biji pala yang mengalami pengecilan ukuran secara tradisional (suhu  $\pm 30^{\circ}\text{C}$ ) sebagian besar minyak atsiri hilang dan mutunya menurun. Sebagai alternatif metode pengecilan ukuran pada suhu dingin dan *cryogenic* telah banyak digunakan pada saat ini.

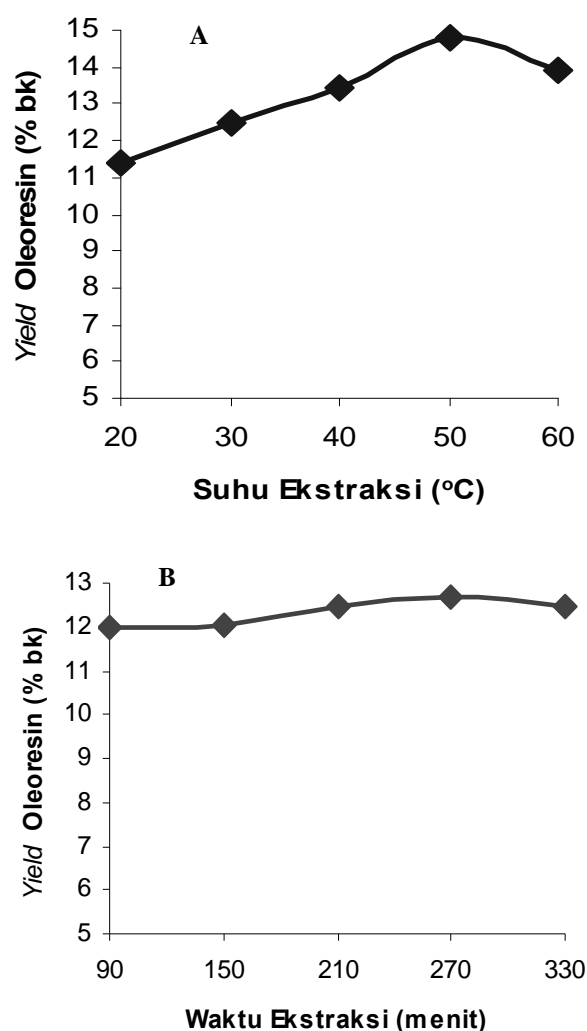
Tabel 3. Pengaruh suhu ekstraksi terhadap hasil oleoresin pala

Suhu proses pengecilan ukuran Biji pala	Ekstraksi ke		Jumlah (g)	Hasil (%db)
	1 (g)	2 (g)		
Suhu ruang	2.296	0.396	2.692	12.04
Suhu 4°C	2.726	0.596	3.322	14.86

Selanjutnya pada percobaan kedua (penentuan titik nol) dilakukan untuk melihat pengaruh suhu ekstraksi terhadap hasil oleoresin yang diperoleh, dari percobaan ini dapat dikatakan bahwa, suhu ekstraksi memberikan pengaruh terhadap proses difusi yang terjadi selama berlangsungnya proses ekstraksi sampai pada titik kesetimbangan pada suhu 50 °C, selanjutnya bila suhu dinaikan sampai pada suhu 60 °C memperlihatkan penurunan hasil oleoresin (Gambar 1.A). Hal ini disebabkan karena pada suhu tersebut minyak atsiri mulai menguap sehingga mempengaruhi persen hasil oleoresin yang diperoleh. Pada percobaan penentuan titik pusat untuk variabel waktu diperoleh hasil oleoresin yang lebih tinggi pada waktu ekstraksi selama 270 menit, dan relatif tidak terjadi peningkatan yang nyata bila waktu ekstraksi diperpanjang (Gambar 1.B). Hal ini disebabkan telah terjadi keseimbangan, sehingga proses difusi oleoresin keluar dari bahan tidak terjadi lagi.

### Optimasi Kondisi Ekstraksi

Pada Gambar 1 menunjukkan bahwa suhu ekstraksi oleoresin pala 50 °C dan waktu ekstraksi 270 menit menghasilkan hasil oleoresin masing-masing sebesar 14,78 dan



Gambar 1. A. Pengaruh suhu ekstraksi terhadap yield oleoresin pala, rasio bahan: pelarut (1:5), waktu : 150 menit. B. Pengaruh waktu ekstraksi terhadap yield oleoresin pala, rasio bahan: pelarut (1:5), suhu: 50 oC

12,69 %. Nilai suhu dan waktu ini selanjutnya digunakan sebagai titik pusat (*Central point*) pada optimasi menggunakan metode CCD. Tabel 2, memperlihatkan nilai prediksi dan percobaan dari % hasil oleoresin menggunakan disain CCD dengan 10 unit kombinasi perlakuan termasuk 2 ulangan pada titik pusat.

Nilai respon (% hasil oleoresin) dari percobaan, prediksi pada kombinasi perlakuan dengan disain CCD dapat dilihat pada Tabel 4, terlihat bahwa persen hasil oleoresin hasil percobaan tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata di antara keduanya, artinya model yang digunakan sudah sesuai, salah satu parameter kesesuaian model adalah kecilnya perbedaan antara respon hasil percobaan dan respon hasil prediksi.

Tabel 4. Disain CCD dengan nilai % hasil oleoresin percobaan, prediksi dan perbedaan dari keduanya

No	Kode		Nilai		Hasil (%)		
	X1	X2	Suhu (X1)	Waktu (X2)	Perco-baan	Prediksi	Perbe-daan
1	-1	-1	45	240	11.179	11.117	0.062
2	1	-1	55	240	12.885	12.926	-0.041
3	-1	1	45	300	11.384	11.705	-0.321
4	1	1	55	300	13.044	13.469	-0.425
5	-1.414	0	42.93	270	10.871	10.762	0.109
6	1.414	0	57.07	270	13.543	13.288	0.255
7	0	-1.414	50	227.57	12.095	12.184	-0.089
8	0	1.414	50	312.43	13.436	12.983	0.453
9	0	0	50	270	14.739	14.722	0.017
10	0	0	50	270	14.705	14.722	-0.017

Ringkasan dari hasil analisis regresi berganda diperlihatkan pada Tabel 5 dari dua variabel bebas ( $x_1$ =suhu dan  $x_2$ =waktu) pada hasil ekstraksi dari oleoresin pala. Hasil regresi memperlihatkan bahwa variabel bebas memberikan pengaruh yang sangat nyata ( $P<0.01$ ) pada hasil oleoresin pala. Pengaruh yang sangat nyata ini secara linier dan kuadratik sedangkan pada interaksi antara kedua variabel tidak memberikan pengaruh yang nyata.

Tabel 5. Model koefisien regresi kuadratik dari hasil oleoresin pala

Koefisien	Koefisien Regresi	T	P
<i>Konstanta</i>			
<i>Linier :</i>			
Suhu ( $x_1$ )	5.593	7.074	0.002***
Waktu ( $x_2$ )	0.655	5.266	0.006***
<i>Kuadratik :</i>			
Suhu x suhu ( $(x_1) \times (x_1)$ )	-0.054	-7.575	0.002***
Waktu x waktu ( $(x_2) \times (x_2)$ )	-0.001	-6.005	0.004***
<i>Interaksi:</i>			
Suhu x waktu ( $x_1 \times x_2$ )	-7.853e-5	-0.060	0.955 <sup>tn</sup>
S = 0.3806			
R <sup>2</sup> = 0.966			
R <sup>2</sup> (adj) = 0.924			

Keterangan : \*\*\* nyata ( $P<0.05$ ), tn = tidak nyata

Persamaan regresi dari model ekstraksi oleoresin pala adalah sebagai berikut:

$$Y = -219.203 + 5.593X_1 + 0.655X_2 - 0.054X_1^2 - 0.001X_2^2 - 7.583e-5X_1X_2$$

Kesesuaian model regresi ini dalam menghasilkan hasil oleoresin pala yang optimal terlihat pada tingginya nilai R<sup>2</sup> = 0.966 disamping itu, hal ini juga menunjukkan bahwa suhu dan waktu ekstraksi memberikan pengaruh sebesar 96.6%

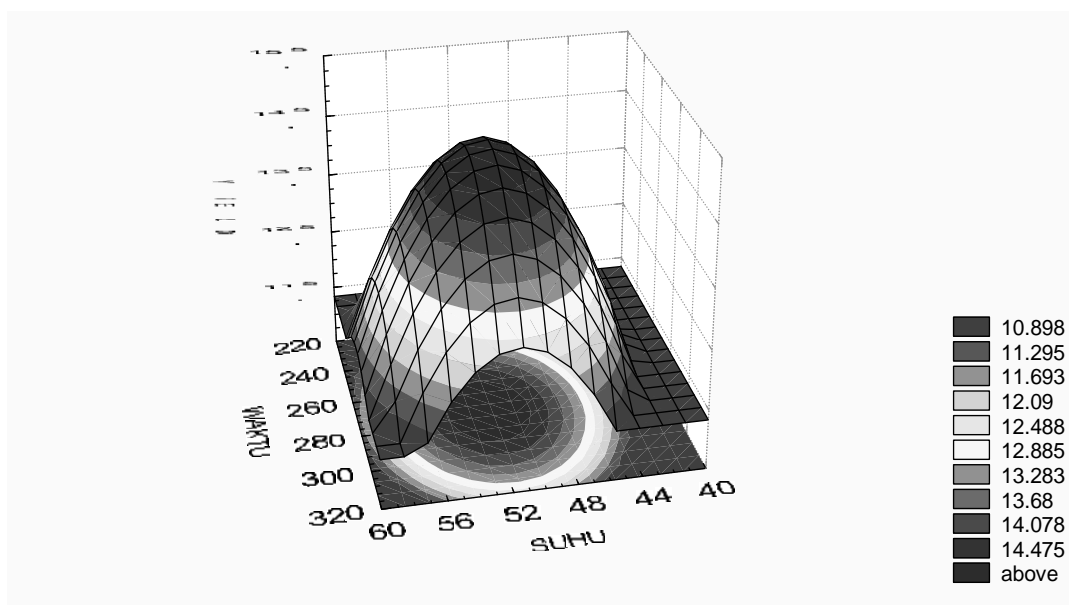
sedangkan faktor lain hanya sebesar 3,4% terhadap hasil oleoresin yang diperoleh. Sedangkan suhu ekstraksi lebih berpengaruh dibandingkan dengan waktu ekstraksi untuk memperoleh hasil oleoresin pala yang optimal. Gambar 2 memperlihatkan bahwa hasil oleoresin pala yang mendekati titik pusat mempunyai kecenderungan membesar. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi suhu dan waktu ekstraksi tetap menunjukkan nilai yang besar walaupun tidak saling mempengaruhi.

Tabel 6. Hasil prediksi kondisi optimum ekstraksi oleoresin pala

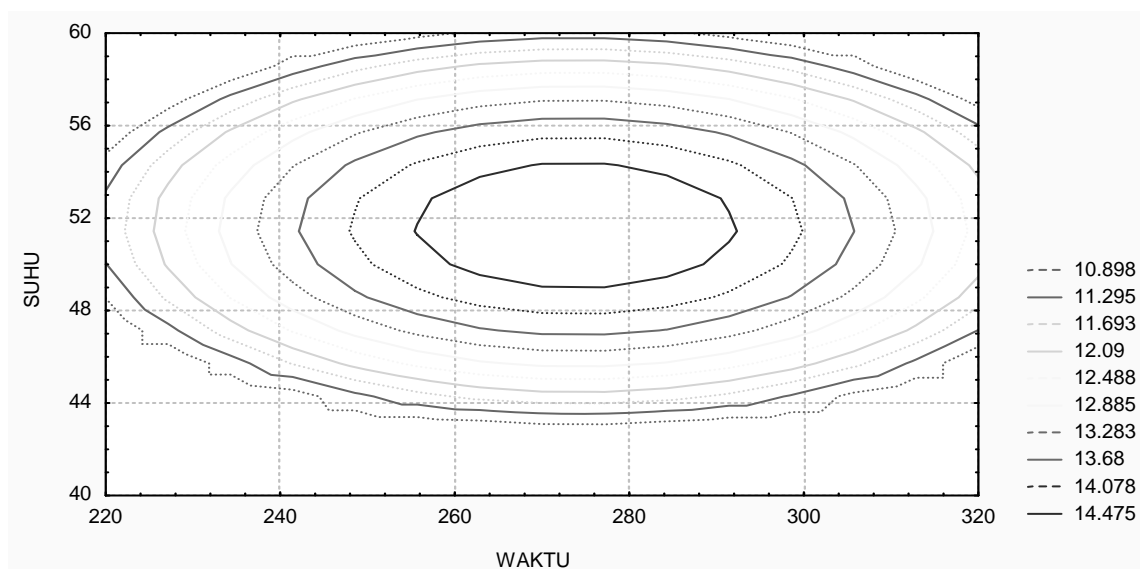
Faktor	Rendah	Tinggi	Optimum
Suhu (°C)	45	55	51,98
Waktu (menit)	90	330	273.82

Kondisi optimum ekstraksi oleoresin pala hasil prediksi menggunakan disain CCD disajikan pada Tabel 6. Untuk memperoleh nilai respon (hasil) yang optimal diperoleh hasil yaitu sebesar 14,88% diperlukan suhu ekstraksi sebesar 51,98°C dan waktu ekstraksi selama 273,82 menit. Hasil ekstraksi oleoresin ini lebih tinggi dibandingkan dengan hasil yang diperoleh Rodianawati dkk. (2008) yaitu hanya 10.6% pada ekstraksi oleoresin dari biji pala yang juga berasal dari Maluku Utara, dengan kondisi yang hampir sama yaitu rasio bahan dan pelarut (1:5), ukuran bahan (20 mesh), jenis pelarut (etanol 96%) dan metode ekstraksi (maserasi), sedangkan yang berbeda hanya suhu (40 °C) dan waktu ekstraksi (2,5 jam). Sedangkan peneliti lain yang juga memperoleh hasil oleoresin rendah yaitu Utomo dan Cisilia (2003) diperoleh oleoresin pala dengan rendemen tertinggi (11,73%) pada ekstraksi yang menggunakan pelarut n-hexana pada suhu 40°C, waktu ekstraksi 2 jam 30 menit, dengan ukuran tepung biji pala 20-30 mesh dan rasio pelarut dengan bahan 1:5. Rendahnya perolehan hasil oleoresin dari beberapa peneliti di atas disebabkan suhu yang digunakan lebih rendah dan waktu ekstraksi yang lebih pendek Hal ini menyebabkan proses difusi belum berlangsung optimal sehingga masih banyak oleoresin yang tertinggal dalam jaringan bahan.

Kenaikan suhu akan menyebabkan gerakan molekul etanol sebagai pelarut semakin cepat dan acak. Selain itu, kenaikan suhu menyebabkan pori-pori padatan mengembang sehingga memudahkan etanol sebagai pelarut untuk mendifusi masuk ke dalam pori-pori padatan pala dan melarutkan oleoresin. Oleh karena itu, oleoresin yang berinteraksi semakin besar dan menyebabkan terjadinya perpindahan masa *solute* dari padatan bahan menuju pelarut semakin besar (Treyball, 1981).



Gambar 2. Surface plot hasil oleoresin pala sebagai hubungan antara suhu (X1) dan waktu (X2) ekstraksi

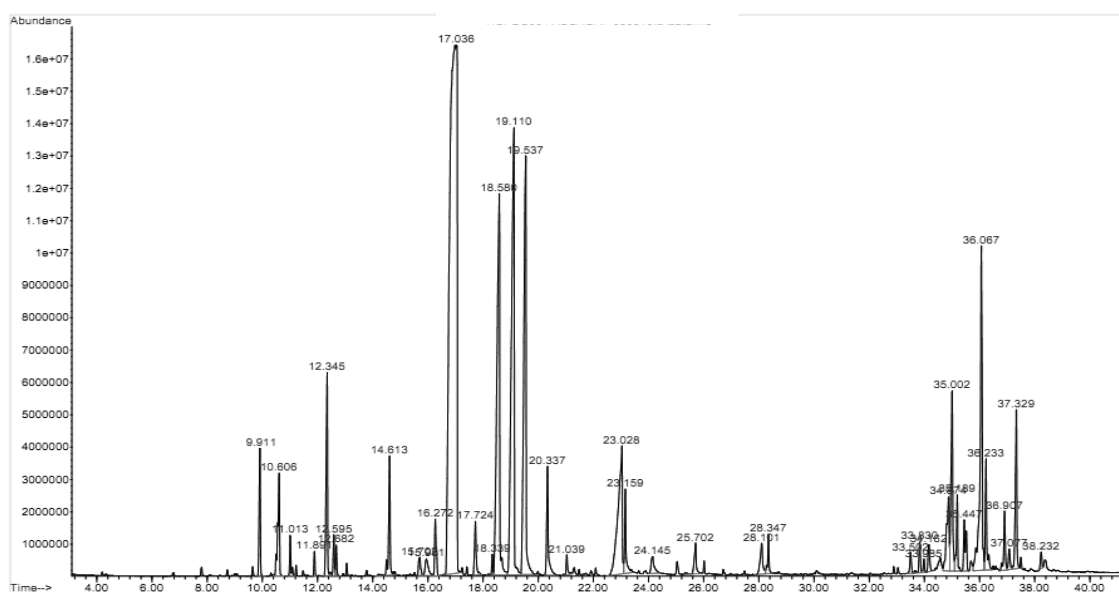


Gambar 3. Contour plot hasil oleoresin pala sebagai hubungan antara suhu (X1) dan waktu (X2) ekstraksi

### Identifikasi Komponen Penyusun Oleoresin Pala Menggunakan GC-MS

Pada oleoresin campuran hasil ekstraksi pertama dan kedua terdapat 39 komponen penyusun (Gambar 4) dengan persen relatif luas area terbesar adalah methyleugenol (33.397%), myristicin (10.898%), cis-methyl isoeugenol (9.086%), elemicin (8.329%), dan isocoumarin (5.608%) dengan 34 komponen dengan persen relatif luas area minor. Sampai saat ini belum ada standar mutu oleoresin pala baik

oleh SNI maupun FDA USA. Komponen penentu rasa dari oleoresin pala menurut Raghavan (2007) adalah myristicin, elemicin dan safrol. Dari hasil penelitian ini komponen terbesar penyusun oleoresin juga terdapat myristicin dan elemicin namun safrol berada dalam jumlah yang kecil. Sementara itu komponen senyawa yang digunakan sebagai syarat mutu minyak pala menurut Standar Nasional Indonesia (SNI 06-2388-2006), mensyaratkan myristicin dalam minyak pala minimum 10%.



Gambar 4. Chromatogram oleoresin pala (*Myristica fragrans* Houtt) hasil optimasi ekstraksi pada kondisi optimum ekstraksi (suhu 52 °C selama 274 menit, rasio bahan: pelarut 1:5, dan pelarut etanol 96% )

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil optimasi kondisi ekstraksi diperoleh suhu optimum ekstraksi sebesar 51,98°C dan waktu optimum ekstraksi adalah selama 273,82 menit dengan hasil optimum hasil oleoresin yang diperoleh sebesar 14,88 %. Sedangkan dari hasil karakterisasi dengan menggunakan GC-MS diperoleh 39 komponen dengan 5 senyawa kimia penyusun oleoresin dengan luas area relatif terbesar yaitu senyawa methyleugenol (33.397%), myristicin (10.898%), cis-methyl isoeugenol (9.086%), elemicin (8.329%), dan isocoumarin (5.608%) dengan 34 komponen lain dengan persen relatif luas area minor.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada Badan Litbang Pertanian Kementerian Pertanian Republik Indonesia yang telah mendanai kegiatan penelitian ini melalui program Kerja sama Kemitraan Penelitian Pertanian dengan Perguruan Tinggi (KKP3T) tahun 2010 dan LPPM UGM yang telah memfasilitasi sehingga penelitian ini dapat berlangsung dengan lancar.

## DAFTAR PUSTAKA

Adams, R.P. (2004). *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Quadrupole Mass Spectroscopy*. Carol stream, Allured

Standar Nasional Indoensia (2006). SNI 06-2388-2006. Minyak Pala. Badan Standarisasi Nasional.

Box, G.E.P., Hunter, W.G. dan Hunter, J.S. (1978). *Statistics for Experimenters*. John Wiley and Sons, Inc.

Cacace, J.E. dan Mazza, G. (2003). Optimization of extraction of anthocyanins from black currants with sulfured water. *Journal of Food Science* **68**: 240–248.

Chandrayani, E. (2002). *Mikroenkapsulasi Oleoresin Biji Pala dengan Menggunakan Sukrosa Sebagai Bahan Penyalut*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Cho, S. Y., Lee, Y. N. dan Park, H. J. (2009). Optimization of ethanol extraction and further purification of isoflavones from soybean sprout cotyledon. *Food Chemistry* **117**: 312–317.

Hwang, K. T., Jung, S. T., Lee, G. D., Chinnan, M. S., Park, Y. S. dan Park, H. J. (2002). Controlling molecular weight and degree of deacetylation of chitosan by response surface methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**(7): 1876–1882.

Kim, J. T., Cha, D. S., Lee, G. D., Park, T. W., Kwon, D. K. dan Park, H. J. (2002). Process optimization of sweet potato pulp-based biodegradable plastics using response surface methodology. *Journal of Applied Polymer Science* **83**(2): 423–434.

Maya, K.M., Zachariah, T. J. dan Krishnamoorthy. B. (2004). Chemical composition of essential oil of nutmeg



- (*Myristica fragrans* Houtt) accessions. *Journal of Spices and Aromatic Crops* **13**(2): 135-139.
- Moestafa (1981). *Aspek Teknis Pengolahan Rempah-Rempah menjadi Oleoresin dan Minyak Rempah-Rempah*. BPIHP, Bogor.
- Montgomery, D. C. (2001). *Design and Analysis of Experiments* (5th ed.). Wiley, New York.
- Norulaini, N.A. N., Anuar, O., Omar, A.K.M., Al Karkhi, F.M. A., Setianto, W. B., Fatehah, M.O., Sahena. F. dan Zaidul, I.S.M. (2009). Optimization of SC-CO<sub>2</sub> extraction of zerumbone from *Zingiber zerumbet* (L) Smith. *Food Chemistry* **114**: 702–705.
- Purseglove, J. W., Brown, E. G., Green, C. L. dan Robbins, S.R.J. (1981). *Spices: Nutmeg and Mace. Volume 1*. Longman Scientific and Technical Singapore Publisher Pte Ltd.
- Raghavan, U.S. (2007). *Handbook of Spices, Seasonings, and Flavorings*. 2<sup>nd</sup> Edition. CRC Press. Boca Raton, Florida.
- Rodianawati, I., Hastuti, P. dan Nurcahyanto, M. (2008). Karakterisasi komponen oleoresin biji pala (*Myristica Fragrance* Houtt) asal Maluku Utara. *Prosiding Workshop Minyak Atsiri*. Surabaya.
- Shaikh, J., Bhosale, R. dan Singhal, R.S. (2006). Microencapsulation of black pepper oleoresin. *Food Chemistry* **94**: 105–110.
- Shieh, C.J., Koehler, P.E. dan Casimir, C.A. (1996). Optimization of sucrose polyester synthesis using response surface methodology. *Journal of Food Science* **61**:97-100.
- Simandi, B., Oszagyan, M., Lemberkovics, E., Kery, A., Kaszacs, J., Thyron, F. dan Matyas, T. (1999). Supercritical carbon dioxide extraction and fractionation of oregano oleoresin. *Food Research International* **31**(10): 723-728.
- Somaatmadja, D. (1981). Prospek pengembangan industri oleoresin di Indonesia. *Makalah dalam hasil perumusan dan kumpulan kertas kerja pekan pengembangan ekspor rempah-rempah olahan di Tanjung Karang*, Lampung, 21-22 Januari.
- Tomaino, A., Cimino, F., Zimbalatti, V., Venuti, V., Sulfaro, V., De Pasquale A. dan Saija, A. (2005). Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. *Food Chemistry* **89**: 549–554.
- Treyball, R.E. (1981). *Mass Transfer Operation*, 3<sup>ed</sup>. McGraw Hill Book Company, New York.
- Utomo, J. dan Cisilia, M. 2003. Pengaruh ukuran biji pala dan rasio pelarut terhadap rendemen dan mutu oleoresin biji pala (*Myristica fragrans* Houtt). Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia 2003. <http://digilib.che.itb.ac.id/download.php?id=1637>.
- Wei, Z.J., Liao, A.M., Zhang, H.X., Liu, J. dan Jiang, S.T. (2009). Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of silkworm pupal oil applying the response surface methodology. *Bioresource Technology* **100**: 4214–4219.
- Wettasinghe, M. dan Shahidi, F. (1999). Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen derived free radicals. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **47**: 1801–1812.
- Zhang, Q.A., Fan, X.H., Zhang, Z.Q., Zhang, B.S., Zhang, Z.Q. dan Jia, X.Y. (2009). Optimization of SC-CO<sub>2</sub> extraction of oil from almond pretreated with auto-claving *LWT-Food Science and Technology* **42**: 1530–1537.